

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIDAD DE POSGRADO

**“Extracción y actividad antioxidante del
colorante natural de la pulpa del fruto de
Opuntia ficus-indica “tuna morada” y su
aplicación en crema chantilly”**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magister en Ciencia de los Alimentos

AUTOR

Sofía López Guerra

ASESOR

Eloísa M. Hernández Fernández

Lima – Perú

2014

JURADO EXAMINADOR Y CALIFICADOR

Dr. Pablo Bonilla Rivera

Presidente

Dra. Eloísa M. Hernández Fernández

Miembro

Dr. José Juárez Eyzaguirre

Miembro

Mg. Mirtha Roque Alcarraz

Miembro

Mg. Luis Alberto Inostroza Ruíz

Miembro

ASESOR DE TESIS

Dra. Eloísa M. Hernández Fernández

Docente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad
Nacional Mayor de san Marcos

DEDICATORIA

**A Mario, Miriam, Rodrigo, Michelle y Leonardo,
por formar parte de mis sueños y metas,
gracias por su amor, paciencia y tolerancia.**

AGRADECIMIENTO

A la **Dra. Eloísa Hernández Fernández**, asesor, por su valiosa asesoría y apoyo permanente en la ejecución del presente trabajo de investigación.

Al **Dr. Mario Carhuapoma Yance**, co-asesor, por sus valiosos aportes y apoyo incondicional en la ejecución del presente trabajo de investigación.

A los docentes miembros del Jurado Examinador y Calificador, por sus importantes sugerencias para la mejor redacción final de la tesis.

A los docentes de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga.

A los Ingenieros que laboran en la Estación Experimental de CANAAN – Ayacucho.

A las señoras Liseth López y Roxana López, por su apoyo incondicional.

RESUMEN

La ***Opuntia ficus-indica*** “tuna morada”, especie nativa que crece en la región Quechua del Perú, fue recolectada en la estación experimental de CANAAN, distrito de Ayacucho, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho. El objetivo fue extraer el colorante natural de la pulpa del fruto de “tuna morada” para evaluar su actividad antioxidante y su aplicación en crema chantilly. La extracción se realizó utilizando solución hidroalcohólica (acidulada con ácido cítrico al 0,2%). La actividad antioxidante se determinó por dos métodos: método de la actividad secuestradora del Radical 1,1-Difenil-2-Picrilhidrazilo (DPPH) y el método de peroxidación lipídica microsomal. La estabilidad del colorante se determinó a través de su absorbancia a 537 nm mediante el espectrofotómetro UV-visible; el pH por potenciometría y sólidos totales por refractometría; finalmente, se determinó los parámetros de color, olor, sabor mediante escala ordinal de aceptación sensorial del producto crema chantilly a la que se le añadió el extracto de ***Opuntia ficus-indica***. Los resultados de la extracción hidroalcohólica del colorante natural presentaron un rendimiento de 16 % de la pulpa total. La actividad antioxidante del extracto frente al DPPH fue de 62,56% comparado con la vitamina C que fue de 69,77%. A mayor concentración del extracto hay mayor efecto antioxidante. La actividad antioxidante según modelo de la peroxidación lipídica microsomal, inhibió al complejo malondialdehído-ácido tiobarbitúrico en 0,117 $\mu\text{mol/mL}$, frente a la vitamina C de 0,103 $\mu\text{mol/mL}$, comparado con el blanco que reportó 0,540 $\mu\text{mol/mL}$. En cuanto a la aplicación del colorante natural al producto crema chantilly presenta actividad antioxidante y con un tiempo de vida útil de siete días. Se concluye que los pigmentos del fruto de “tuna morada” tienen actividad antioxidante y es aplicable en crema chantilly.

Palabras clave: ***Opuntia ficus-indica***, tuna morada, actividad antioxidante.

ABSTRACT

The *Opuntia ficus-indica* "purple tuna", native species that grows in the region Quechua of Peru, was collected at the experimental station of Canaan district of Ayacucho, Huamanga province, department of Ayacucho. The objective was to remove the natural coloring of the fruit pulp of "purple tuna" to evaluate its antioxidant activity and its application in whipped cream. Extraction was performed using water-alcohol solution (acidified with 0,2% citric acid). The antioxidant activity was determined by two methods: the method Radical scavenging activity of 1,1-Diphenyl-2-Picrilhidrazilo (DPPH) and the method of microsomal lipid peroxidation. The dye stability was determined by its absorbance at 537 nm by UV-visible spectrophotometer; the pH by potentiometry and total solids by refractometry; finally, determined the parameters of color, odor, flavor by sensory acceptance ordinal scale chantilly cream product to which was added the extract of *Opuntia ficus-indica*. The results of the natural coloring hydroalcoholic extraction showed a yield of 16% of the overall pulp. The antioxidant activity of the extract against DPPH was 62,56% compared with vitamin C which was 69,77%. A higher concentration of no greater antioxidant extract. The antioxidant according to the model of microsomal lipid peroxidation, inhibited the thiobarbituric acid-malondialdehyde complex in 0,117 mol/mL, compared to vitamin C of 0,103 mmol/mL, compared to that reported white 0,540 mmol/mL. As regards the application of natural coloring whipped cream product presents an antioxidant activity and useful life time of seven days. We conclude that the pigments of the fruit of "purple tuna" have antioxidant activity and is applicable in whipped cream.

Key words: *Opuntia ficus-indica*, purple tuna, antioxidant activity.

INDICE

JURADO EXAMINADOR Y CALIFICADOR	ii
ASESOR DE TESIS	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
INDICE	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. GENERALIDADES	3
2.1. Antecedentes generales de la especie	3
2.2. Radicales Libres	7
2.3. Sistemas de defensas antioxidantes	18
2.4. Actividad antioxidante	20
2.5. Colorante natural	20
2.6. Crema chantilly	25
III. PARTE EXPERIMENTAL	26
3.1. MATERIALES Y MÉTODOS:	26
a) Recolección de la muestra	27
b) Obtención del extracto natural	27
c) Capacidad Antioxidante del colorante natural	28
- Método de la actividad secuestradora del Radical 1,1-Difenil-2-Picrilhidrazilo	28
- Método peroxidación lipídica microsomal	30
d) Estabilidad del colorante del extracto	32
e) Evaluación del producto	32
f) Aplicación en crema de repostería	32
g) Evaluación Sensorial	33
h) Métodos estadísticos para el análisis de los resultados	33
IV. RESULTADOS	34
V. DISCUSIÓN	42

VI.	CONCLUSIONES	45
VII.	BIBLIOGRAFÍA	46
VIII.	ANEXO	51

I. INTRODUCCIÓN

En los últimos años hay una gran tendencia a restringir el uso de colorantes sintéticos debido a su posible toxicidad, lo que se refleja en los continuos cambios que se realizan en las legislaciones de alimentos. Como resultado de tales medidas ha aumentado el interés por los colorantes de origen natural como sustitutos, ya que hasta la fecha no hay evidencia de que su uso sea nocivo a la salud^[1,4].

Entre los pigmentos naturales se encuentran las clorofilas, carotenoides, flavonoides, antocianinas y betalaínas; estos pigmentos están presentes en una gran diversidad de productos y por consiguiente han sido estudiados desde hace muchos años, a excepción de las betalaínas, las cuales recientemente han despertado gran interés entre los investigadores ya que solamente se encuentran en diez familias del orden *Centrospermae*. Las betalaínas obtenidas de *Beta vulgaris* “beterraga” han sido las más estudiadas y utilizadas como aditivos en alimentos; sin embargo, se han iniciado diversos estudios con el propósito de encontrar otras fuentes naturales que contengan este tipo de pigmentos. A la fecha se han reportado algunas fuentes de obtención de pigmentos rojos como el amaranto, especialmente el género *Celosia*, flores de bugambilia (*Bougainvillea glabra*), hongos del género *Amanita Hygrocybe*, algunas especies de pitayas pertenecientes a los géneros *Hylocereus* y *Stenocereus*, garambullo *Myrtillocactus geometrizans*, flores del cactus de navidad (*Schlumbergera buckleyi*) y la jiotilla (*Escontria chiotilla*)^[1,7].

La tuna morada (*Opuntia ficus-indica*), es una especie que crece de manera silvestre en la región de la sierra peruana, siendo la región de Ayacucho la de mayor producción, seguida de Apurímac y Huancavelica. En estas regiones se usa como alimento y medicina. Existen muchas variedades, entre las que destacan está la tuna morada, amarilla, blanca, caigua, etc^[4,8].

La tuna morada contiene pigmentos naturales como la betacianina y la betaxantina, que pertenece al grupo de pigmentos betalainas, muy confundido con las antocianinas que hay en muchas especies como el maíz morado, la papa morada, sauco, camote morado, etc^[3,5].

Estos pigmentos naturales son empleados en la industria de alimentos y en alimentos caseros, además de ser excelentes antioxidantes y conservantes de los

alimentos. Organolépticamente son muy atractivos en los alimentos por el color rojizo y fucsia, sensorialmente llamativo para el consumidor. Considerando estos antecedentes, nos planteamos el objetivo de obtener el extracto de la pulpa del fruto de ***Opuntia ficus-indica*** “tuna morada”, determinar su actividad antioxidante y su aplicación en crema chantilly.

II. GENERALIDADES

2.1. Antecedentes generales de la especie

2.1.1. Ubicación taxonómica

De acuerdo al sistema de clasificación botánica de A. Cronquist, se ubica en la siguiente categoría taxonómica (Mostacero, 2002)^[1].

DIVISIÓN : Magnoliophyta
CLASE : Magnoliopsida
ORDEN : Opuntiales
FAMILIA : Cactaceae
GÉNERO : *Opuntia*
ESPECIE : ***Opuntia ficus-indica***
NOMBRE COMÚN : “***Tuna morada***”

2.1.2. Características botánicas

El tallo y las ramas están constituidos por cladodios o pencas con apariencia de cojines ovoides y aplanados, unidos unos a otros, pudiendo en conjunto alcanzar hasta 5 m de altura y 4 m de diámetro. El tallo, a diferencia de otras especies de cactáceas, está conformado por tronco y ramas aplanadas que posee cutícula gruesa de color verde de función fotosintética y de almacenamiento de agua en los tejidos. Las hojas caducas sólo se observan sobre tallos tiernos, cuando se produce la renovación de pencas, en cuyas axilas se haya la aérola de las cuales brotan las espinas, de aproximadamente 4 a 5 mm de longitud. Las flores son solitarias, localizadas en la parte superior de la penca, de 6 a 7 cm de longitud. Cada aérola produce por lo general una flor, aunque no en una misma época de floración, unas pueden brotar el primer año, otras el segundo y tercero. Las flores se abren a los 35 a 45 días de su brotación; sus pétalos son de colores vivos: amarillo, anaranjado, rojo, rosa; sépalos numerosos de color amarillo claro a rojizo o blanco. El fruto es una baya polisperma, carnosa, de forma ovoide esférica, sus dimensiones y coloración varían según la especie; presentan espinas finas y frágiles de 2 a 3 mm de

longitud. La pulpa es gelatinosa conteniendo numerosas semillas (Mostacero *et al.*, 2002)^[1].



Figura 1. Fruto y flores de la *Opuntia ficus-indica* “tuna morada”.

<http://bomets.com/?p=483>

2.1.3. Distribución geográfica del género *Opuntia* por el mundo

Esta planta es originaria de México y de Perú donde es conocida y usada desde tiempos prehispánicos y desde allí se han distribuido en varios países del mundo. Las especies del género *Opuntia* son componentes dominantes de las zonas áridas y semiáridas. Se distribuyen bajo diferentes condiciones ambientales, al soportar escasa humedad, gran variabilidad de temperatura por lo que se encuentran prácticamente en cualquier tipo de topografía; sin embargo, al igual que cualquier grupo taxonómico, presentan umbrales ambientales, los cuales limitan su distribución (Palacios, y col. 2005)^[2].

En los diferentes países tropicales donde se cultiva o donde se naturalizó, *Opuntia ficus-indica* ha sufrido variaciones geno y

fenotípicas a las que los horticultores distinguen y dan diferentes nombres (Wafra, 2008)^[3].



Figura 2. Distribución fitogeográfica del género *Opuntia*
<http://www.thelovelyplants.com/striking-landscape-plant-opuntia-ficus-indica-prickly-pear/>

2.1.4. Valor nutricional de *Opuntia ficus-indica*^[3]

Tabla 1. Composición nutricional de *Opuntia ficus-indica*

Nutriente	Cantidad
Porción comestible (g)	100
Calorías (Kcal.)	58 - 66
Proteínas (g)	3
Grasas (g)	0,20
Carbohidratos (g)	15,50: glucosa 35%, fructuosa 29%, fibra rica en pectina 14,4%
Calcio (g)	30
Fosforo (g)	28
Azúcar	12 – 15%
Ácidos orgánicos	0,10%
Potasio	3,4%

2.1.5. Propiedades químicas de las betalaínas^[3]

Las betalaínas son pigmentos naturales nitrogenados hidrosolubles. Son compuestos derivados del ácido betalámico. De acuerdo a su estructura química las betalaínas se dividen en dos subgrupos: betaxantinas y betacianinas. Las betaxantinas son productos de condensación de este ácido con aminas o aminoácidos y abarcan las tonalidades amarillas a anaranjadas. Las betacianinas poseen una estructura cíclica tipo dihidroxifenilalanina (DOPA) y pueden presentar diferentes sustituyentes y proporcionan los colores rojo y violeta, siendo la betanina la más conocida. Las betalaínas son compuestos cuya presencia en vegetales es limitada, aunque pueden concentrarse en diferentes partes de la planta; por ejemplo, en raíces como en el caso de la remolacha, en flores como portulacas y en frutos como tunas moradas (*Opuntia ficus-indica*).

Las betalaínas son fitoquímicos considerados como potentes antioxidantes, sin embargo su presencia está restringida a solamente algunas familias de plantas relacionadas con el orden Caryophyllales, dentro de la cual destacan los géneros *Beta*, *Amaranthus*, *Opuntia* e *Hylocereus*.

2.1.6. Actividad antioxidante de las betalainas^[4,5]

Actualmente es creciente el estudio de las betalaínas por su rol fisiológico como desactivantes de especies oxidantes por lo que están relacionadas con efectos benéficos para la salud y preventivo de algunas enfermedades. Si bien hay estudios que demuestran que las betalaínas de remolacha tienen propiedades atrapadoras de radicales libres, los estudios de la actividad de estos compuestos obtenidos de tunas (género *Opuntia*) son escasos.

En los últimos años han proliferado los estudios sobre betalaínas y sus propiedades como componentes de varias especies de los géneros *Opuntia* e *Hylocereus*. El género *Stenocereus* ha sido menos

estudiado, no obstante que se caracteriza, al igual que *Opuntia* e *Hylocereus*, por producir frutos jugosos con pulpa de atractivos colores.

2.2. Radicales libres

Un radical libre (RL) es cualquier especie química ya sea atómica o molecular, capaz de existir independientemente y que contiene uno o más electrones desapareados en el orbital más externo. Estos electrones generan un campo eléctrico que no es anulado, lo que ocasiona que la especie química sea paramagnética y por ende altamente reactiva, capaces de actuar en los sistemas biológicos dañándolos irreversiblemente (Venero, 2002)^[6].

El estrés oxidativo es la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen una ruptura del equilibrio que debe existir entre las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno. Todo esto trae como consecuencia alteraciones de la relación estructura-función en cualquier órgano, sistema o grupo celular especializado. El estrés oxidativo ocasiona daño oxidativo, que ocasiona un estado patológico y la muerte celular (Amie, *et al.*, 2003)^[7].

Repo *et al.*, 2008^[8], determinaron la capacidad antioxidante de tres variedades de tuna por dos diferentes métodos DPPH y ABTS, obteniendo la tuna roja 77,65%, siendo ésta la de mayor capacidad antioxidante, seguida de la tuna anaranjada con 41,65% y la tuna verde con 34,20%.

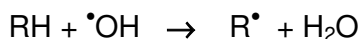
Araya *et al.*, 2006^[9], determinaron la capacidad antioxidante de *Opuntia spp* por el método FRAP, según Benzie y Strain, por lectura espectrofotométrica a los 4 minutos después de la adición de reactivo, obteniendo un valor de 0,171.

2.2.1. Radicales libres y sus repercusiones

Los radicales libres son aquellas moléculas que en su estructura presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración espacial que genera una alta inestabilidad. Según Halliwell (1991), los radicales libres pueden llevar a cabo uno de los siguientes tipos de reacciones:

- a) Ceder su electrón desapareado (radical reductor
- b) Aceptar un electrón de la molécula estable para estabilizar el electrón desapareado (radical oxidante).
- c) Unirse a una molécula estable.

En cualquiera de los tres casos, la situación resultante es la génesis de otro radical químicamente agresivo ^[10].



Esto lo hace muy inestable, extraordinariamente reactivo y de vida efímera, con una enorme capacidad para combinarse inespecíficamente en la mayoría de los casos, así como con la diversidad de moléculas integrantes de la estructura celular: carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y derivados en cada una de estas macromoléculas ^[11].



Figura 3. El átomo de oxígeno pierde un electrón y queda como radical libre.

<http://web-salud.blogspot.com/2015/01/radicales-libres.html>

Los radicales libres son elaborados continuamente como producto del metabolismo normal de cada célula e inactivados por un conjunto de mecanismos (unos enzimáticos y otros de atrapamiento). Son componentes normales de células y tejidos, existiendo una poza de radicales libres particular en cada grupo celular y en algunos tipos celulares permiten la mejor adaptación a su hábitat. Al elevarse o disminuir las concentraciones fisiológicas de las especies reactivas de oxígeno (EROS) pueden acarrear desastrosas alteraciones funcionales. La aterosclerosis, el envejecimiento y el cáncer, por citar algunos ejemplos, son un tercio de la enorme lista de problemas fisiopatológicos ocasionados por los radicales libres ^[12, 13].

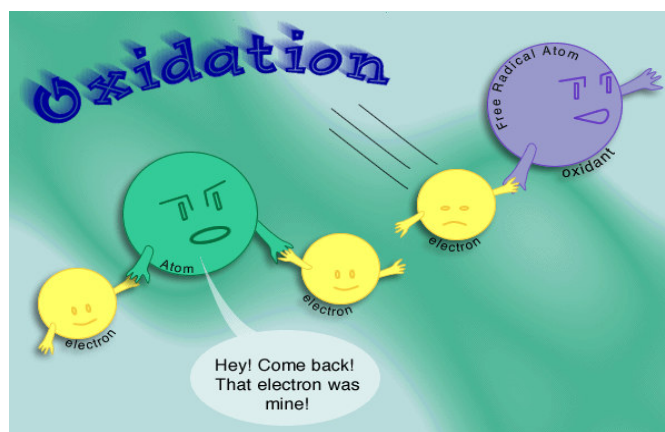


Figura 4. El radical libre sustrae un electrón de moléculas biológicas.

<http://institutovalencianodeozonoterapia.com/estres-oxidativo/>

El oxígeno molecular (O_2) es fundamentalmente birradical ya que tiene 2 electrones no apareados en su orbital externo, ambos con el mismo giro paralelo, impidiendo que capte 2 electrones simultáneamente en las reacciones que interviene. El oxígeno solo puede intervenir en reacciones univalentes y aceptar los electrones de uno en uno.

La mayor parte del oxígeno utilizado por el organismo humano es reducido a la forma de molécula de agua por acción del complejo

citocromo-oxidasa (citocromo A+a3) de la cadena respiratoria mitocondrial, según la reacción global siguiente:



El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) no es estrictamente un radical libre pero por su capacidad de generar el $\cdot\text{OH}$ en presencia de metales como el hierro, se le incorpora como tal.

La sangre, fluido biológico compuesto por eritrocitos, leucocitos y plaquetas como elementos celulares, cumple entre otras funciones la de transportar el oxígeno desde los pulmones hasta los tejidos, y es aquí donde este actúa como sustrato en diversas reacciones bioquímicas intracelulares y como resultado se desencadena una gran producción de H_2O_2 y superóxido ($\text{O}_2\cdot^-$), entre otras especies reactivas de oxígeno (ROS) (ver tabla 2).

2.2.2. Fuentes biológicas de radicales libres

a) Mitocondrias

Constituye la fuente principal de radicales libres. Este fenómeno se efectúa a nivel de la cadena de transporte de electrones, que es la última etapa de producción de protones de alta energía, y cuyo pasaje a través de la membrana interna mitocondrial genera un gradiente eléctrico que aporta la energía necesaria para formar adenosina trifosfato (ATP). En este proceso de fosforilación oxidativa el oxígeno actúa como aceptor final de electrones, adquiriendo en más del 95 % de estas reacciones un total de 4 electrones de moléculas con producción de 2 moléculas de H_2O . Una consecuencia directa de este proceso es que entre los nutrientes iniciales y la generación de energía al final del proceso, se

forman varias moléculas con diferente grado de oxidación. Algunas de estas puede entregar 1 ó 2 electrones al oxígeno y producir intermediarios parcialmente reducidos que son los radicales libres [14].

Tabla 2. Clasificación de especies reactivas de oxígeno, cloro y nitrógeno.

CLASES	RADICALES	NO RADICALES
Especies reactivas de oxígeno (ROS)	Superóxido $O_2^{\bullet-}$ (*) Hidroxilo $\bullet OH$ (*) Hidroperoxilo HO_2^{\bullet} (*) Peroxilo RO_2^{\bullet} (*) Peroxilo de lípido LO_2^{\bullet} (*) Alcoxilo de lípido LO^{\bullet} (*)	Peróxido de hidrógeno H_2O_2 (*) Ácido hipobromoso $HOBr$ Ozono O_3 Oxígeno singlete $^1\Delta^1O_2$ (*) Peróxido de lípidos $LOOH$ (*) Productos de la reacción de Maillard (*)
Especies reactivas de cloro (RCS)	Cloro atómico Cl^{\bullet}	Ácido hipocloroso $HOCl$ (*) Cloruro de nitrilo NO_2Cl Cloraminas
Especies reactivas de nitrógeno (RNS)	Óxido nítrico NO^{\bullet} (*) Dióxido de nitrógeno O_2^{\bullet} (*)	Ácido nitroso HNO_2 (*) Cation nitrosilo NO^+ Anión nitrosilo NO^- Tetróxido dinitrógeno N_2O_4 Trióxido dinitrógeno N_2O_3 Peróxinitrito $ONOO^-$ Ácido peroxinitroso $ONOOH$ Cation nitronium NO_2^+ Peroxinitritos de alquilo $ROONO$ Cloruro de nitrilo NO_2Cl

Fuente: Cadenas *et al.* (2002)^[15].

(*) Especies reactivas con presencia frecuente en alimentos.

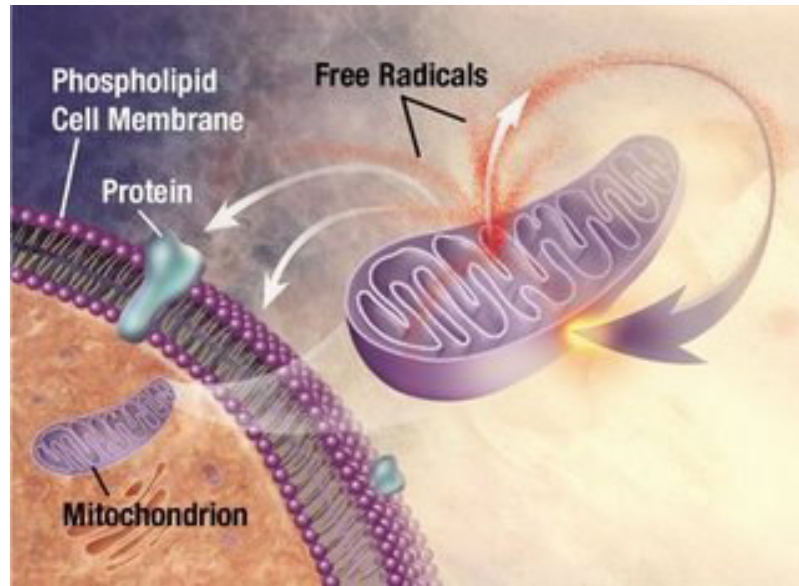


Figura 5. Producción de radicales libres mitocondriales y estrés oxidativo.

<http://www.blogodisea.com/radicales-libres.html>

b) Peroxisomas^[15]

Organelas del citosol muy ricas en oxidasas y que generan H_2O_2 , el cual es depurado por enzimas específicas (catalasas) y transformado en agua.

c) Leucocitos polimorfonucleares^[15]

Constituyen una fuente importante, cuando se activan por diversas proteínas que actúan específicamente sobre estos (complemento, interleukinas, etc). Los leucocitos poseen en sus membranas la enzima NADPH oxidasa generadora de O_2^- que en presencia de hierro se transforma en el altamente tóxico $^{\bullet}OH$. Esta situación se da particularmente en los procesos inflamatorios.

d) Xantina deshidrogenasa^[15]

Predomina en los endotelios, normalmente depura las xantinas (isquemia, entre otros), genera $O_2^{\bullet-}$.

2.2.3. Factores para la producción de radicales libres^[15]

- a) **Químicas:** aumento de metales pesados, xenobióticos como insecticidas; componentes del tabaco.
- b) **Drogas:** adriamicina.
- c) **Físicos:** radiaciones ultravioleta, hiperoxia.
- d) **Orgánicos y metabólicos:** dieta hipercalórica, dieta insuficiente en antioxidantes, diabetes, procesos inflamatorios y traumatismos, fenómenos de isquemia - reperfusión y ejercicios extenuantes.

2.2.4. Estrés oxidativo

La exposición de la materia viva a diversas fuentes producen una ruptura del equilibrio que debe existir entre las sustancias o factores prooxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno. Todo esto trae como consecuencia alteraciones de la relación estructura-función en cualquier órgano, sistema o grupo celular especializado. El estrés oxidativo ocasiona el daño oxidativo, que conlleva a un estado patológico y la muerte celular. En 1954, Gerschman, sugirió por primera vez que los RL eran agentes tóxicos y generadores de enfermedades^[16].

Los RL dañan diversas estructuras moleculares de la célula^[17, 18]:

a) Carbohidratos

Los radicales hidroxilos ($\cdot\text{OH}$), reaccionan con los carbohidratos secuestrando al azar un hidrógeno de un átomo de carbono, produciendo de esta manera un radical de carbono que ocasionaría la ruptura de importantes moléculas biológicas, tales como el ácido hialurónico.

b) Peroxidación lipídica

Los lípidos están constituidos por ácidos grasos poliinsaturados, los cuales son parte constitutiva de las estructuras celulares. Si se dañan las estructuras ricas en lípidos, como las membranas celulares y las lipoproteínas, se presentan dos posibilidades: en las primeras se altera la permeabilidad conduciendo al edema y la muerte celular; y en la segunda, la oxidación de la LDL genera la placa ateromatosa.

La característica de la oxidación lipídica por los RL, es la producción de una reacción en cadena en la que el ácido graso al oxidarse, se convierte en radical de ácido graso con capacidad de oxidar a otra molécula vecina.

Este proceso genera numerosos subproductos como el malondialdehído (MDA), cuya determinación en tejidos, plasma u orina es uno de los métodos de evaluar el estrés oxidativo.

Cuando hay una peroxidación lipídica en alimentos, se producen fenómenos de rancidez, reversión y otros tipos de sabores y olores indeseados.

c) Proteínas

En el caso de las proteínas, se oxidan preferentemente los aminoácidos fenilalanina, tirosina, triptófano, histidina y metionina y, como consecuencia, se forman entrecruzamientos de cadenas peptídicas, fragmentación de la proteína y formación de grupos carbonilos e impiden el normal desarrollo de sus funciones (transportadores iónicos de membranas, receptores y mensajeros celulares, enzimas que regulan el metabolismo celular, etc).

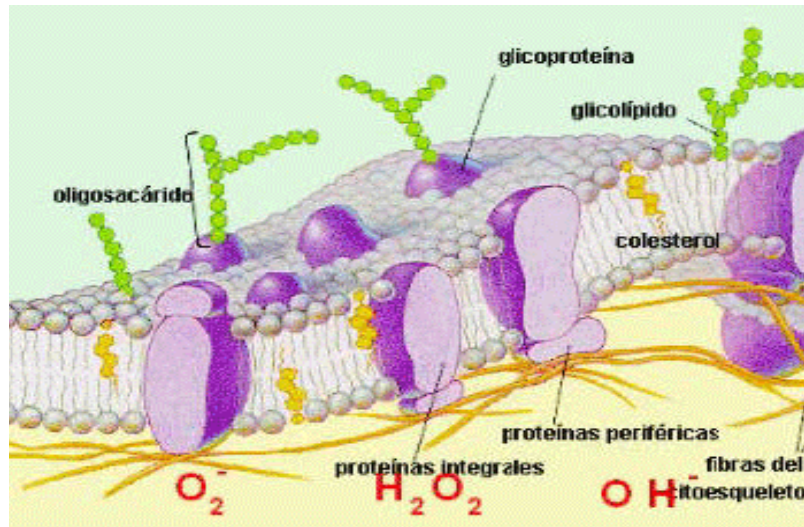


Figura 6. Daño a nivel de la membrana celular por radicales $O_2^{\bullet -}$, H_2O_2 y OH^{\bullet} .

http://dennissealva.blogspot.com/2010_11_01_archive.html

d) ADN

El daño a los ácidos nucleicos produce bases modificadas, generando serias consecuencias en el desarrollo de mutaciones y carcinogénesis por una parte, o la pérdida de expresión por daño al gen específico. El más afectado es el ADN mitocondrial, debido a que no posee proteínas protectoras.

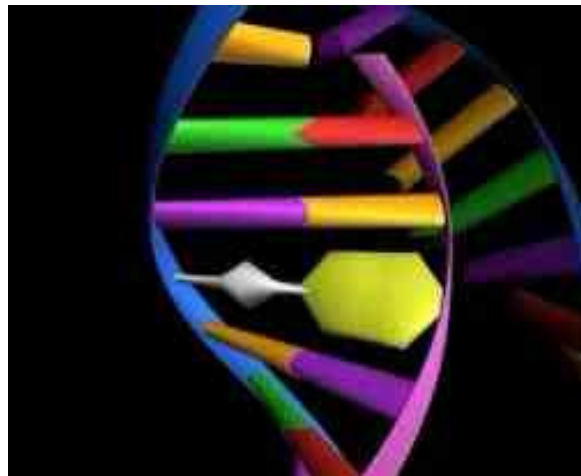


Figura 7. Modificación de bases nitrogenadas del ADN por radicales libres. <https://adnestructurayfunciones.wordpress.com/>

Los daños a niveles moleculares, ocasionado por los radicales libres, implica la génesis o exacerbación de numerosos procesos patológicos:

- (i) **Aparato cardiovascular:** aterosclerosis, infarto del miocardio, diabetes, cardiopatía alcohólica.
- (ii) **Sistema neurológico:** enfermedad de Parkinson, alzheimer, neuropatía alcohólica, hiperoxia, isquemia o infarto cerebral, traumatismos craneales.
- (iii) **Aparato ocular:** cataratas, daño degenerativo de la retina, fibroplasia retrolental.
- (iv) **Aparato respiratorio:** distrés respiratorio (síndrome de dificultad respiratoria del adulto), cáncer de pulmón, enfisema.
- (v) **Soma:** artritis reumatoidea.
- (vi) **Riñón:** síndrome autoinmune, nefrotoxicidad por metales.

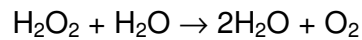
2.2.5. Sistema de defensa biológico

Si bien todos los organismos vivos soportan numerosos factores endógenos y exógenos de estrés oxidativo, al mismo tiempo poseen numerosos sistemas de defensas antioxidantes regulables, enzimáticos y no enzimáticos. En esta protección contra la agresión celular actúan en cinco niveles de defensa antioxidante^[19]:

- a) **Primer nivel:** consiste en la reducción univalente del oxígeno mediante sistemas enzimáticos capaces de efectuar la reducción tetravalente consecutiva sin liberar los intermediarios parcialmente reducidos. Esto lo logra con gran eficiencia el sistema citocromo-oxidasa de la cadena respiratoria mitocondrial responsable de más del 90 % de la reducción del oxígeno en el organismo humano.

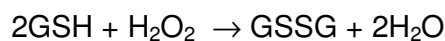
b) **Segundo nivel:** lo constituyen enzimas especializadas en captar el radical anión superóxido.

c) **Tercer nivel:** dado por un grupo de enzimas especializadas en neutralizar el peróxido de hidrógeno. La catalasa, que se encuentra en los peroxisomas y cataliza la reacción de dismutación siguiente:



(i) **Superóxido dismutasa** (SOD), una familia de enzimas antioxidantes responsables para la dismutación de los radicales superóxidos y la formación de peróxido de hidrógeno.

(ii) **Glutación peroxidasa** (GSH-Px dependiente del Se) y la catalasa (CAT dependiente del Fe), ambos reducen el peróxido de hidrógeno hasta H_2O . Como resultado, la reacción de superóxidos con moléculas biológicas y el potencial para la producción de radicales más poderosos, se encuentra enormemente reducido.



GSH : glutación reducido

GSSG: glutación oxidado

d) **Cuarto nivel:** aquí el radical hidroxilo producido en el ciclo de Haber-Weiss puede ser neutralizado por la vitamina E (tocoferol), que es un antioxidante efectivo y, que por su hidrofobicidad, se encuentra en las membranas biológicas donde su protección es particularmente importante. También la vitamina C o ácido ascórbico es un agente reductor o donador de electrones y reacciona rápidamente con el radical $\cdot\text{OH}$.

e) **Quinto nivel:** una vez producido el daño molecular, existe un quinto nivel de defensa que consiste en la reparación. Está demostrado

que los radicales libres son capaces de provocar rupturas de la cadena de ADN y aun de inducir mutagénesis, pero existen mecanismos enzimáticos de reparación que permiten restablecer la información genética^[20,21].

2.3. Sistemas de defensas antioxidantes

Según Halliwell (1991)^[22,23], define como antioxidante a toda sustancia que hallándose presente a bajas concentraciones con respecto a las de un sustrato oxidable (biomolécula), retarda o previene la oxidación de dicho sustrato.

El antioxidante al colisionar con el RL le cede un electrón oxidándose a su vez y transformándose en un RL débil no tóxico y que en algunos casos como la vitamina E, puede regenerarse a su forma original por la acción de otros antioxidantes. No todos los antioxidantes actúan de esta manera, los llamados enzimáticos catalizan o aceleran reacciones químicas que utilizan sustratos que a su vez reaccionan con los RL.

De las numerosas clasificaciones de los antioxidantes, se recomienda adoptar la que los divide en: exógenos o antioxidantes que ingresan a través de la cadena alimentaria y endógena que son sintetizados por la célula.

Cada antioxidante posee una afinidad hacia un determinado RL o hacia varios. La vitamina E, el betacaroteno y el licopeno actúan en el medio liposoluble de la célula, su absorción y transporte se hallan muy vinculados con el de los lípidos. La vitamina E es considerada la más importante protectora de las moléculas lipídicas.

- a) **Vitamina C:** neutraliza el oxígeno singlete, captura radicales hidroxilos, captura anión superóxidos y regenera la forma oxidada de vitamina E^[24].
- b) **Vitamina E:** neutraliza el oxígeno singlete, captura radicales libres hidroxilos, neutraliza peróxidos y captura anión superóxido.
- c) **Betacaroteno:** neutraliza el oxígeno singlete.

d) Polifenoles: interfieren en la oxidación de los lípidos o de otras biomoléculas por la rápida donación de un átomo de hidrógeno a los RL. El fenol por sí mismo es inactivo como antioxidante; pero, los compuestos *orto-* y *para*-difenílicos poseen actividad antioxidante, la cual se incrementa con la sustitución de sus átomos de hidrógeno por grupos *etil-* o *n-butil*^[25].

2.3.1. Antioxidantes en la prevención de enfermedades

Antioxidantes y enfermedad cardiovascular: la enfermedad cardiovascular secundaria al proceso conocido como aterosclerosis constituye la primera causa de mortalidad e invalidez en la cuarta década de la vida. La modificación oxidativa de las lipoproteínas, particularmente las lipoproteínas de baja densidad (LDL) por los RL, sería uno de los mecanismos básicos de la aterogénesis. El colesterol y los fosfolípidos de las LDL se encuentran protegidos de la oxidación por varios agentes antioxidantes lipofílicos: vitaminas E, β -carotenos y ubiquinol. El antioxidante más importante en la protección de las lipoproteínas es la vitamina E, calculándose que cada molécula de ésta es capaz de proteger 500 moléculas de fosfolípidos^[26,27].

2.3.2. Antioxidantes y cáncer

Más de 150 estudios epidemiológicos evidencian una correlación inversa entre la ingesta de antioxidantes y el riesgo de adquirir diversos tipos de tumores y tienden a señalar al β -caroteno como el agente protector en enfermedades tumorales. Como posible mecanismo se reconoce que el ADN puede dañarse y por ende, sufrir mutaciones por lesión directa de los RL sobre las bases, o en forma directa afectando la actividad de las proteínas específicas que lo repara (proto-oncogen), o lo frena (supresores). También el tabaquismo produce un alto grado de estrés oxidativo por diversos mecanismos, ocasionando al mismo carcinogénesis a nivel pulmonar^[28-31].

2.4. Actividad antioxidante

2.4.1. Antioxidantes

Los antioxidantes son sustancias que detienen o previenen una cadena de propagación oxidativa, mediante la estabilización del radical generado (radical libre). Nuestro organismo posee antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos para protegerse de estos radicales, sin embargo otra fuente muy importante de estos son las plantas, y precisamente el estudio de estos compuestos es prioritario por su rol en la protección del cuerpo humano en contra de un número considerable de enfermedades degenerativas, las evidencias experimentales sugieren que protegen de manera importante las funciones biológicas de las células en contra de la actividad de los radicales libres (estrés oxidativo)^[32-34].

2.5. Colorante natural

2.5.1. Betalaínas

El término betalaínas se refiere a un grupo de aproximadamente 70 pigmentos hidrosolubles, con estructuras de glucósidos, derivados del ácido betalámico, y que se han dividido en dos grandes grupos: los rojos o betacianinas, y los amarillos o betaxantinas. La forma general de las betalaínas representa la condensación de una amina primaria o secundaria con ácido betalámico (García, 2008)^[35].

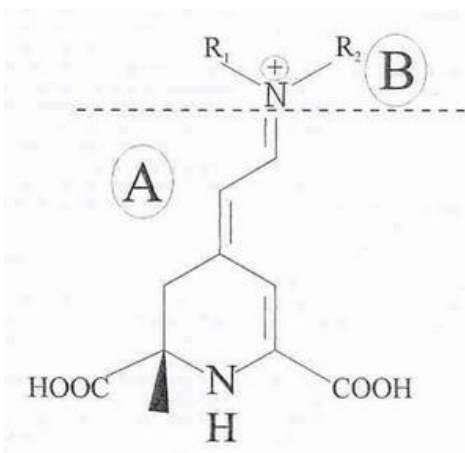


Figura 8. Fórmula general de las betalaínas^[35]

Son parecidas a las antocianinas y flavonoides en apariencia visual. Anteriormente se les llamaba antocianinas nitrogenadas. Estos pigmentos se encuentran sólo en 10 familias de vegetales, todas pertenecientes al orden Caryophyllales: Aizoaceae, Amaranthaceae, Basellanaceae, Cactaceae, Chenopodiaceae, Didiereaceae, Holophytaceae, Nyctaginaceae, Phytolaccaceae y Portulacaceae. También se han encontrado algunas betalainas de origen fúngico en el hongo venenoso *Amanita muscaria*. Las betalainas, al igual que las antocianinas, se acumulan en las vacuolas celulares de las flores, frutas y hojas que las sintetizan, principalmente en la epidermis y la subepidermis. De las fuentes de betalainas, sólo la remolacha, el amaranto y las frutas de cactáceas son productos alimentarios^[35]. La tuna morada y la tuna amarilla, poseen como marcadores fitoquímicos a las betacianinas y betaxantinas, respectivamente; a ello se debe su color característico de este fruto.

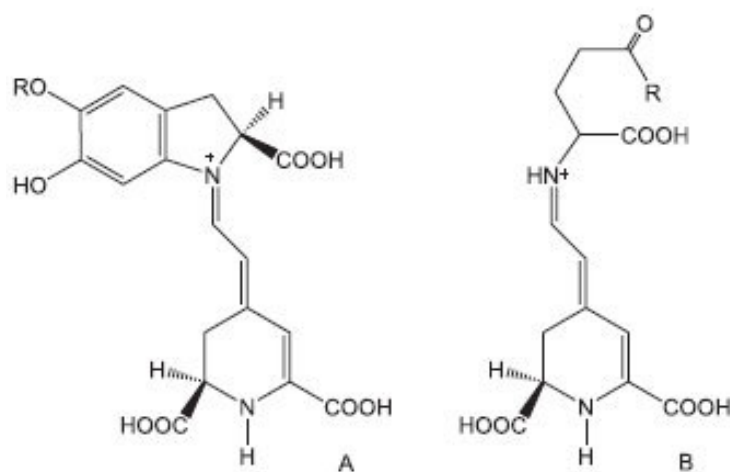


Figura 9. Estructura molecular de betacianinas (A) y betaxantina (B)^[35].

2.5.2. Colorantes sintéticos y naturales^[35,36]

Se sabe que la aceptación de un producto por parte del consumidor depende en gran medida de su apariencia y, por tanto, también de su color. El color y la apariencia son quizá los atributos de calidad más

importantes de los alimentos debido a nuestra capacidad y facilidad para percibir estas características ya que son las primeras evaluadas por el consumidor al adquirir los alimentos.

Los alimentos naturales tienen su propio color y los procesos tecnológicos empleados provocan que el color sea distinto en cada lote de producción o bien que las sustancias colorantes naturales terminen por destruirse por calor, acidez, luz, etc.

De manera general, los colorantes son adicionados a los alimentos por las siguientes razones:

- a) Asegurar uniformidad en tonos, evitando variaciones naturales en la intensidad de los mismos.
- b) Intensificar colores en alimentos donde se han visto disminuidos.
- c) Devolver al producto la apariencia original cuando el color natural ha sido destruido por el procesamiento.
- d) Conservar la identidad y el carácter de los alimentos.
- e) Como indicador visual de la calidad del producto.

Del conjunto de los aditivos alimentarios, el grupo de los colorantes es, probablemente, el que mayor polémica ha originado entre los consumidores. Frecuentemente, se les considera aditivos de dudosa utilidad por cuanto no influyen en la calidad del producto respecto a su conservación o calidad nutritiva, sin embargo debe considerarse que algunas sustancias como el betacaroteno o la riboflavina no son solo colorantes, sino también nutrientes. En consecuencia, y para que sean debidamente aceptados, el nivel de riesgo aceptable para un beneficio pequeño ha de ser en concentraciones que no causen toxicidad.

De acuerdo con su origen o procedencia, los colorantes pueden clasificarse en tres grandes grupos:

- a) Naturales,
- b) Semisintéticos o idénticos a naturales

c) Sintéticos o artificiales.

Los colorantes sintéticos son aquellos que no son generados por la naturaleza y son producidos por síntesis química. Por el contrario, los pigmentos naturales son generados por vegetales o animales, o bien encontrados en minerales.

Los semisintéticos o llamados también idénticos a naturales, son producidos por síntesis química pero con características semejantes a los naturales, aunque algunas veces este grupo está incluido en los colorantes sintéticos.

Actualmente existe una cierta tendencia a utilizar, cuando es posible, colorantes naturales en lugar de los sintéticos ya que se cree que son inocuos y, por tanto, sin riesgo para la salud humana. Las sustancias que se utilizan como aditivos colorantes sintéticos en alimentos deben cumplir con los siguientes requisitos:

- a) Ser inocuos.
- b) Ser una especie química definida y pura.
- c) Tener gran poder tintóreo con el objeto de utilizar la mínima cantidad posible y ser fácilmente incorporables al producto.
- d) Tener la mayor estabilidad posible a la luz, calor, a los cambios de pH y a los agentes oxidantes y reductores.
- e) Poseer compatibilidad con los productos que debe pigmentar.
- f) No poseer olor ni sabor desagradables con el fin de no variar las características del alimento que se colorea.
- g) Ser lo más económico posible.

Entre los colorantes rojos sintéticos usados como colorantes en alimentos destacan el FD & C Rojo 2, 4 y 40. El rojo N° 2 fue aprobado en 1907, pero estudios de toxicidad aguda y crónica efectuados por investigadores rusos suscitaron dudas respecto al efecto de este colorante.

En 1980 se rechazó una petición de registro permanente del rojo 2 debido a que la información disponible era insuficiente para demostrar que el colorante era seguro (FDA, 1980). Sin embargo, la División de Protección de la Salud de Canadá consideró que las investigaciones realizadas por la FDA eran inadecuadas. Como resultado, este país decidió continuar usando el rojo N° 2. En la misma posición están Suecia, Dinamarca y los países de la Unión Europea. Por otra parte, Canadá ha prohibido el uso en alimentos del rojo N° 40, después de que estudios reportados por la oficina de Salud Pública demostraron que su seguridad era insuficiente. Sin embargo en 1974 Estados Unidos lo aprobó en forma permanente y es en la actualidad el único color rojo certificado que se admite en ese país para cualquier uso en alimentos, no siendo permitido en Canadá.

En los últimos años ha aumentado su demanda debido a que muchos colorantes sintéticos han sido prohibidos, por ejemplo el rojo N° 2 en Estados Unidos, ha sido reemplazado por el rojo N° 40 el cual no ha sido aprobado por la mayoría de los países. Los pigmentos obtenidos a partir del betabel están permanentemente en la lista de colorantes aceptados para su uso en alimentos en Estados Unidos desde 1960 y no necesitan certificación.

2.5.3. Regulación de colorantes^[35, 36]

Las autoridades legislativas de Unión Europea (UE) intentaron uniformizar la legislación para aditivos colorantes de los países del Mercado Común y a cada colorante permitido se ha asignado un número E.

En Estados Unidos a partir de 1938, el uso de colorantes está controlado por la FDA y se refiere a dos categorías de colorantes: colorantes certificados y colorantes exentos de certificación. Los colorantes certificados son productos sintéticos FD&C y el proceso de certificación consiste en realizarles análisis químicos bioquímicos,

toxicológicos y médicos, los cuales deben garantizar la salud de los consumidores.

Los colorantes exentos de certificación o son pigmentos naturales o colorantes sintéticos específicos que son idénticos a los naturales; un ejemplo de estos últimos es el β - caroteno que se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, pero que también ha sido sintetizado para alcanzar la condición de sustancia idéntica a la natural.

2.6. Crema chantilly^[37]

La crema chantilly, que etimológicamente procede de la ciudad francesa Chantilly, es una crema batida ligeramente azucarada y perfumada con vainilla (***Vanilla planifolia***). La receta original se debe a François Vatel, en el s. XVII. En ciertos países, notablemente en Alemania, no está necesariamente azucarada o perfumada.

Esta crema es muy utilizada en la decoración de postres o las llamadas tortas, es de consumo masivo por la población mundial; en el Perú, se emplea para decorar diversos alimentos de repostería y tortas de cumpleaños y diversas ceremonias sociales, consumidos principalmente por niños. Para que sea más atractivo debe llevar colorante, principalmente de color rojo, usándose ya sea sintético o de pigmentos naturales. La betacianina de la tuna morada es una excelente alternativa de uso para la crema chantilly.

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. Materiales y métodos

3.1.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se desarrolló en los laboratorios de Química Orgánica y Química Analítica del Instituto de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales “Juan de Dios Guevara”, de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. En los laboratorios de Química de Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga.

3.1.2. Materiales, equipos, reactivos y soluciones

a) Materiales

- Matraces Erlenmeyer (100, 250 mL)
- Micropipetas
- Pipetas de vidrio (1, 2, 5, 10 mL)
- Probetas de vidrio (50, 100, 250 mL)
- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitados de vidrio (50, 100, 250 mL)

b) Equipos

- Balanza analítica (Acculab ALC 210.4)
- Baño de María (FRAVILL)
- Batidora con pedestal (Oster Stand mixex 270-057)
- Equipo de titulación potenciométrica (Hanna, USA)
- Espectrofotómetro PG UV-visible doble haz
- Estufa L-C oven (Lab Line)
- Potenciómetro (Cyentec)
- Refractómetro (marca Baush & Lomb modelo Abbe-3L)
- Refrigeradora (Bosch)
- Rotavapor (BÜCHI, R-220)

c) Reactivos

- Ácido ascórbico (Vitamina C)
- Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) Sigma
- Ácido tiobarbitúrico (TBA) Sigma
- Dimetilsulfóxido (DMSO) Sigma
- Etanol 96°
- KCl 0,15M
- Metanol 30°
- 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) Sigma

d) Soluciones

- Ácido cítrico al 0,2%
- Ácido tricloroacético 10%
- Solución salina 10%

e) Reactivos biológicos

Se utilizaron ratas Wistar albinas razas Balb/C para extraer el microsoma hepático.

3.1.3. Métodos

a) Recolección de la muestra

Los frutos maduros de *Opuntia ficus-indica* “tuna morada”, se colectaron durante los meses de enero y febrero en la Estación Experimental de CANAAN distrito de San Juan Bautista, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho.

b) Obtención del Extracto Natural^[38]

Se pesaron 2,5 kg del fruto de “tuna morada”, luego se procedió a la inactivación enzimática en estufa eléctrica con circulación de aire a 90 °C x 5 min, seguidamente se peló y cortó en rodajas con cuchillo estéril de acero inoxidable y sometió a extracción con 750

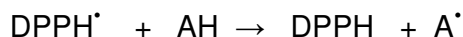
mL de solución de ácido cítrico al 0,2%, luego se adicionó 1500 mL de alcohol de 96° para precipitar las gomas y mucílagos, finalmente se filtró con papel Whatman grado 1:11 µm. El extracto de un volumen de 3000 mL se concentró en rotavapor hasta 400 mL, se guardó en frasco de vidrio envuelto en papel aluminio para proteger de la luz, refrigerándose a 4 °C.

c) Capacidad antioxidante del colorante natural

(i) Método de la actividad secuestradora del radical 1,1-Difenil-2-picrilhidrazilo (Joyeux, *et al.*, 1995)^[39]

Fundamento

El radical libre y estable 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), es un indicador para medir la capacidad de secuestro de cualquier compuesto con actividad antioxidante. Su mecanismo de reacción consiste en la sustracción de un átomo de hidrógeno proveniente de un donador (ej. compuesto betacianina) para generar el compuesto difenilpicrilhidrazina y una especie radical (ej. radical fenoxil). La reacción de ensayo químico *in vitro*, desarrolla un cambio de color violeta a amarillo a medida que disminuye la absorbancia a 515 nm. La reducción del DPPH sigue la siguiente reacción:



Procedimiento

Se prepararon las siguientes soluciones stock: solución metanólica de DPPH 2 µg/100mL; se pesó 10 mg del extracto, diluyendo con metanol a 100 mL, cuya concentración fue de 100 µg/mL (Sol. A); de ésta se tomó una alícuota de 50 mL y se aforó a 100 mL con metanol absoluto/30° en otra fiola, obteniéndose una concentración de 50 µg/mL (Sol. B); finalmente se tomó una alícuota de 10 mL de la Sol. A para

aforar a 100 mL y tener la solución de extracto a 10 µg/mL (Sol. C). Se preparó un blanco con metanol:agua (2:1) para calibrar el espectrofotómetro a cero.

Por triplicado se tomó 1 mL de las tres concentraciones, adicionándole 1,5 mL de la solución de DPPH, dejando a temperatura ambiente por 5 minutos y luego se leyó a 517 nm en espectrofotómetro. La vitamina C fue usado como patrón de comparación a concentraciones similares al extracto.

Mezcla y reacciones

Reactivos	Blanco	Blanco muestra	Patrón Ref.	Muestra
DPPH (mL)	-	-	1,5	1,5
H ₂ O destilada	0,75	-	-	-
Metanol	1,5	1,5	-	-
Vitamina C (10, 50 y 100 µg/mL)	-	-	0,75	-
Extracto (10, 50 y 100 µg/mL)	-	0,75	-	0,75
Total	2,25	2,25	2,25	2,25

La actividad secuestradora de radicales libres es expresada como una concentración efectiva 50% (CE 50; la concentración de sustancia de prueba requerida para reducir la absorbancia de la solución blanco de DPPH en 50%).

Para calcular la capacidad de secuestro de radicales DPPH[•] (capacidad de decoloración) por el extracto y el patrón de referencia, se empleó la siguiente expresión matemática.

$$\% \text{ Capacidad antioxidante} = \left(1 - \frac{(A_2 - A_3)}{A_1} \right) \times 100$$

Donde:

A₁ : Absorbancia del patrón de referencia (vitamina C).

A₂ : Absorbancia del extracto.

A₃ : Absorbancia del blanco de la muestra

(ii) Método de la peroxidación lipídica microsomal (Buege, *et al.*, 1984)^[39,40]

Fundamento

La peroxidación lipídica es producida por un prooxidante como el peróxido de hidrógeno, es un método indirecto que permite detectar los productos de la degradación de los lípidos en aldehídos y malondialdehído. Dos moléculas de ácido tiobarbitúrico (TBA) reaccionan con una molécula de malondialdehído (MDA) para generar un complejo (cromóforo) que se lee a 535 nm. La inhibición se evidencia por una disminución en la producción del complejo MDA-TBA, producto de la peroxidación lipídica.

Procedimiento

Se utilizó un homogenizado de hígado de rata macho Wistar de 190g, la cual se mantuvo en jaula acrílica y permitiéndole alimento (ratonina) y agua a voluntad. La rata dejó de ser alimentada 12 horas antes de ser sacrificada por punción cardiaca seguida por perfusión del hígado con solución salina. Se preparó el homogenizado en 10 volúmenes de KCl 0,15M.

Mezcla y reacciones

Reactivos	Blanco	Control	Muestra
Microsoma hepático (2 mg/mL)	0,5	0,5	0,5
Buffer fosfato 100 mM pH 7,4	1,5	1,4	1,4
H ₂ O ₂	0,1	0,1	0,1
Vitamina C	-	0,1	--
Extracto (10, 50 y 100 µg/mL)	-	-	0,1

Se mezcló e incubó a 37° C por 10 minutos. Se detuvo la reacción con 1,0 mL de ácido tricloracético en cada tubo, luego llevado a baño de maría hirviente por 10 minutos. Se enfrió y añadió 1,5 mL de ácido tiobarbitúrico, se llevó nuevamente a baño de maría hirviente durante 30 minutos. Se retiró y enfrió en baño de agua helada. Se centrifugó a 6000 rpm por 10 minutos, se extrajo el sobrenadante y se realizó la lectura en un espectrofotómetro a 535 nm, a cuya longitud se mide el complejo malondialdehído - ácido tiobarbitúrico (MDA – TBA) formado.

Para los cálculos se utilizó el coeficiente de extinción molar de MDA-TBA: $1,56 \times 10^5 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, mediante la siguiente fórmula:

$$A = \epsilon \times l \times C \quad \dots\dots\dots (1)$$

$$C = A / l \times \epsilon \quad \dots\dots\dots (2)$$

Donde:

A: absorbancia

C: concentración

l = 1cm

$\epsilon_{\text{(MDA-TBA)}} = 1,56 \times 10^5 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

d) Estabilidad del colorante del extracto ^[41,42]

Se determinó por espectrofotometría de luz UV-visible. Inmediatamente a la obtención del extracto y a los siete días de conservación a 4 °C. La curva espectral se determina con un barrido desde 400 hasta 600 nm, observándose una lambda máximo (λ máx.) de 537 nm que corresponde a la betacianina.

Asimismo se determinó **pH** y **acidez total** titulable al extracto, según el método de la AOAC (2005), usando un potenciómetro con precisión de 0,01 unidades de pH. Expresando los resultados como promedio de tres determinaciones.

Los sólidos solubles totales del extracto se expresaron como °Brix determinándose con un refractómetro marca Baush & Lomb modelo Abbe-3L.

e) Evaluación del producto ^[43,44]

Se determinó por espectrofotometría de luz UV-visible, inmediatamente a la preparación de la crema chantilly con el extracto y después de siete días de conservación a 4 °C. La curva espectral se determinó con un barrido desde 400 hasta 600 nm, observándose una lambda máximo (λ máx.) de 537 nm que corresponde a la betacianina.

Asimismo se determinó **pH** y **acidez total** titulable del extracto en la crema chantilly, según el método de la AOAC (2005)^[44] usando un potenciómetro con precisión de 0,01 unidades de pH expresando los resultados como promedios de tres determinaciones.

f) Aplicación en crema de repostería ^[45-47]

Se usó una crema chantilly comercial que es empleada para la decoración de tortas. Aproximadamente 30 mL del extracto, se mezcló con 250 mL de la crema chantilly, homogenizándose

usando la batidora con pedestal, luego se usó la crema en la decoración de una torta, para su evaluación sensorial.

g) Evaluación sensorial ^[48,49]

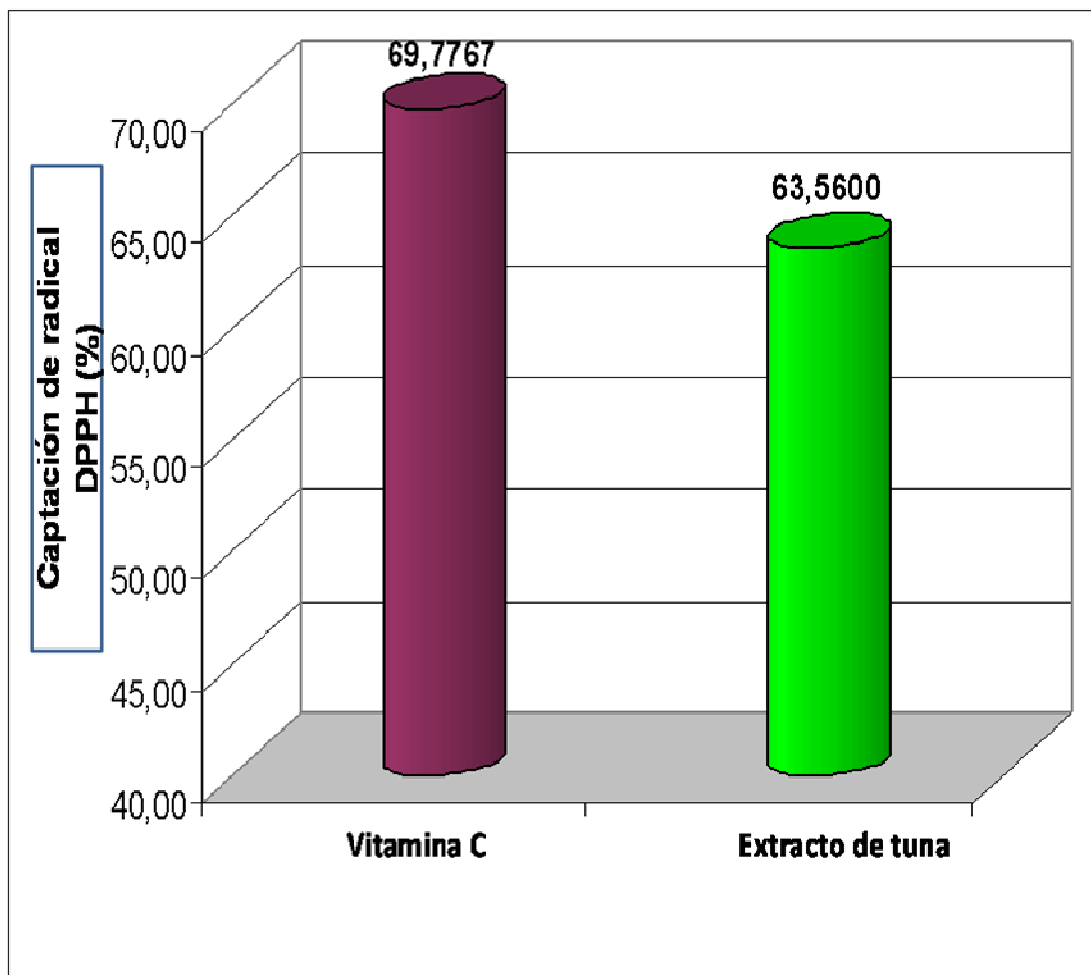
Se realizó en un comité de vaso de leche a 30 madres de familia del distrito de Nazareno – Ayacucho, evaluando los parámetros de color, olor, sabor, mediante escala ordinal de aceptación o sensorial.

h) Métodos estadísticos para el análisis de los resultados ^[50]

Los resultados se presentan en tablas y figuras y sometidos a un Análisis de Varianza y a la Prueba de Tukey para comprobar la diferencia entre las medias, a un 95% de confianza.

IV. RESULTADOS

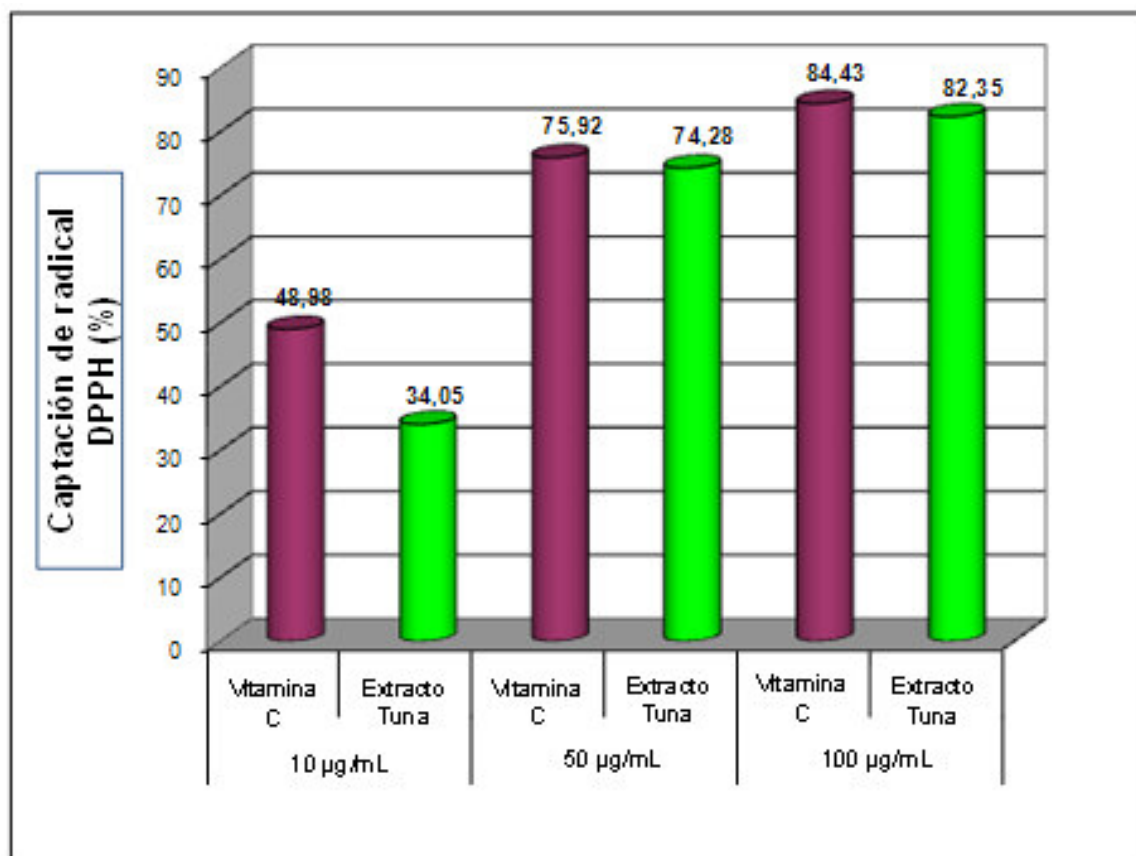
En la figura 10 se observa la captación de radical DPPH del extracto de tuna que obtuvo un 63,56 % comparado con la vitamina C con un 69,77 %; siendo este último quien tiene mayor actividad antioxidante.



$t_c = 0,6757$; $gl = 16$; $P = 0,1162$; NO SIGNIFICATIVO.

Figura 10. Captación de radical DPPH por el Extracto de *Opuntia ficus-indica* y por la vitamina C.

En la figura 11 se determinó la captación de radical DPPH a tres concentraciones (10, 50 y 100 µg/mL) del extracto de tuna frente a la vitamina C, siendo este último el que tiene mayor actividad antioxidante.



10 µg/mL

tc = 12,905; gl = 4; P= 0,0002; SIGNIFICATIVO

50 µg/mL

tc = 6,3581; gl = 4; P= 0,0031; SIGNIFICATIVO

100 µg/mL

tc = 1,3302; gl = 4; P= 0,2542; NO SIGNIFICATIVO

Figura 11. Captación de radical DPPH por concentraciones del extracto de *Opuntia ficus-indica* y la vitamina C.

En la figura 12 se observa la inhibición del complejo malondialdehído-ácido tiobarbitúrico frente al extracto de tuna comparado con la vitamina C; siendo este último la que presentó mayor inhibición con un 0,103 $\mu\text{mol/mL}$.

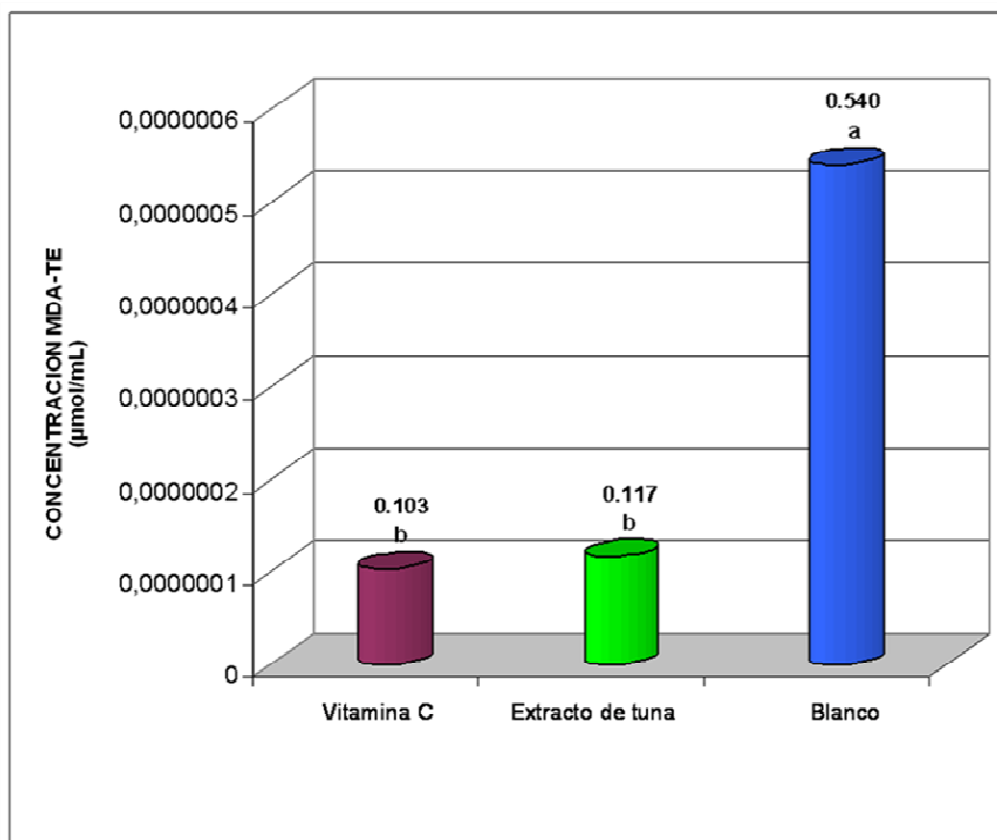
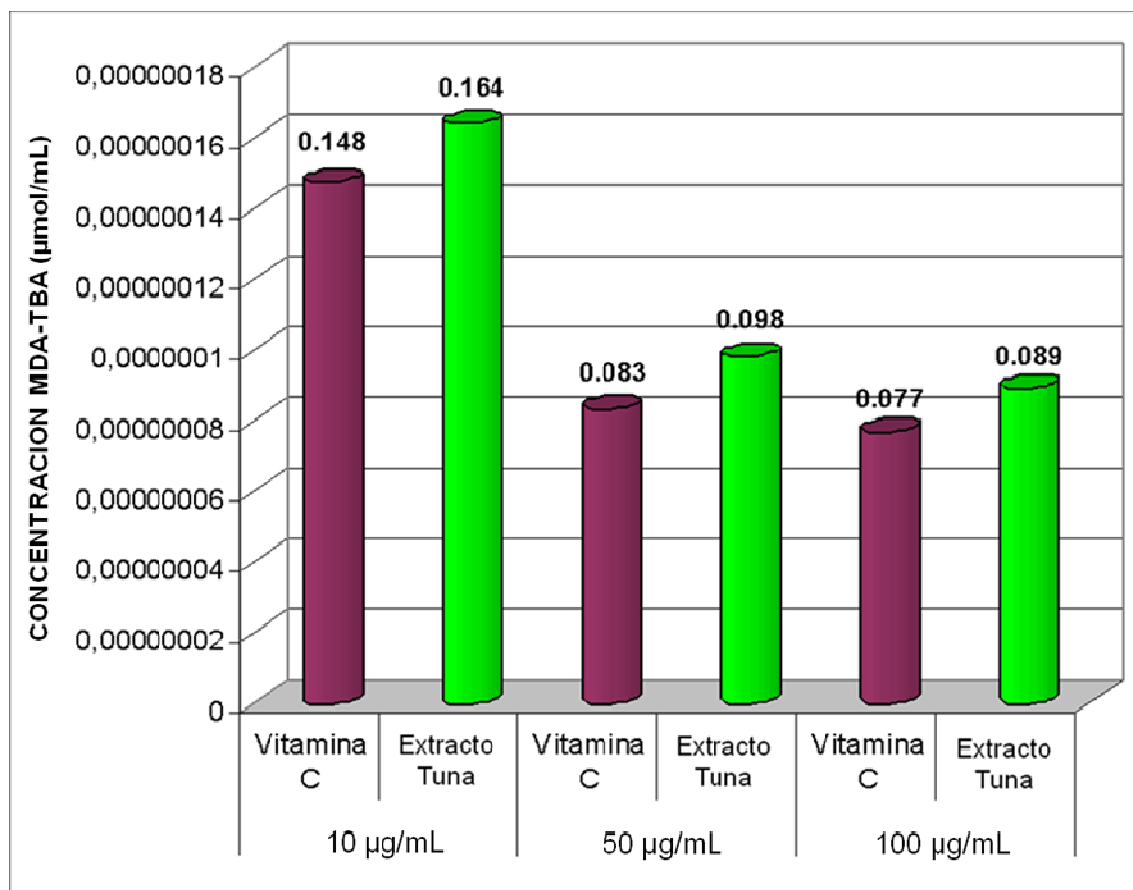


Figura 12. Inhibición del complejo malondialdehído-ácido tiobarbitúrico

En la figura 13 se observa la inhibición del complejo malondialdehído-ácido tiobarbitúrico a tres concentraciones (10, 50 y 100 $\mu\text{g/mL}$) frente al extracto de tuna comparado con la vitamina C; siendo este último la que presentó mayor inhibición en sus tres concentraciones.



10 $\mu\text{g/mL}$

tc = -9,4783; gl = 4; P= 0,0007; SIGNIFICATIVO

50 $\mu\text{g/mL}$

tc = -27,8155673; gl = 4; P= 0,0000; SIGNIFICATIVO

100 $\mu\text{g/mL}$

tc = -41,4862; gl = 4; P= 0,0000; SIGNIFICATIVO

Figura 13. Inhibición del complejo malondialdehído-ácido tiobarbitúrico.

En las figuras 14 y 15, se determinó por espectroscopia UV- Visible la longitud de onda del extracto, siendo 537 nm al inicio de la extracción y manteniéndose esta longitud después de siete días de refrigeración.

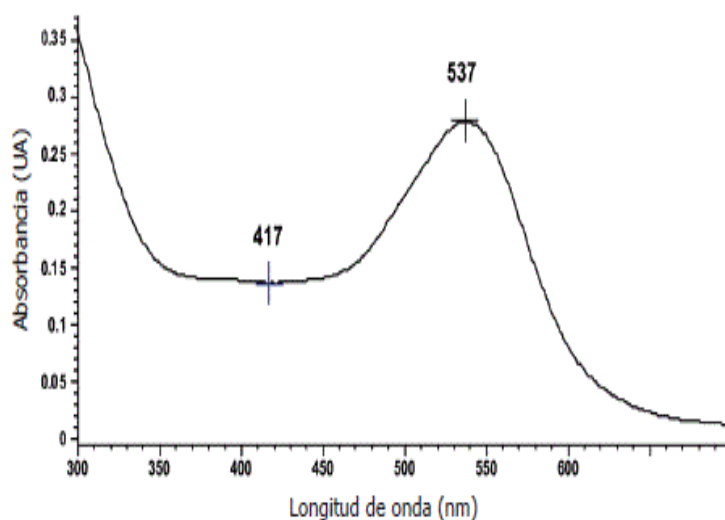


Figura 14. Curva espectral del extracto de *Opuntia ficus-indica* "tuna morada"

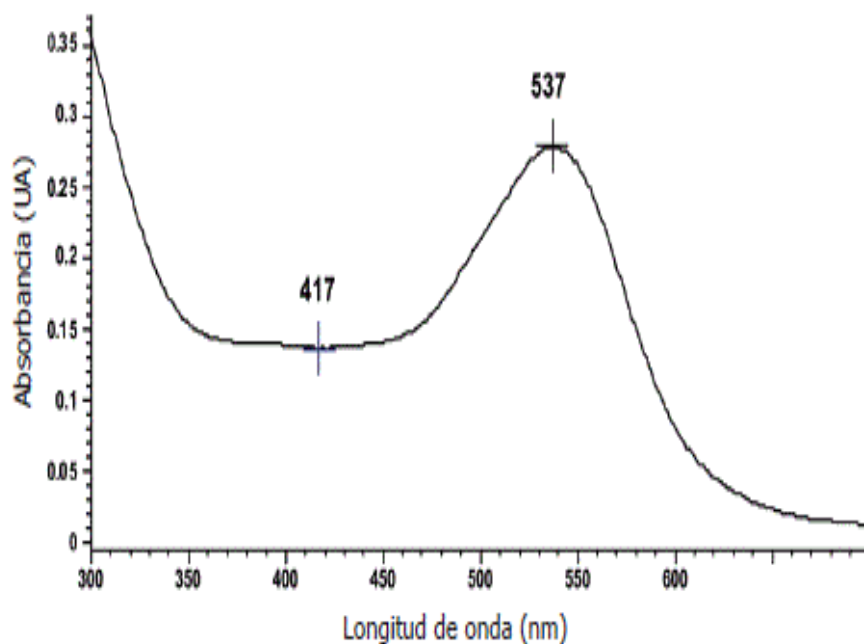


Figura 15. Curva espectral del extracto de *Opuntia ficus-indica* "tuna morada" después de siete días de conservado a 4 °C.

Tabla 3. Determinación de pH, acidez total y sólidos solubles totales del extracto de “tuna morada” *Opuntia ficus-indica*.

parámetro	extracto de tuna
pH	5,20
Acidez total	0,11
sólidos solubles (°Brix)	1,20

Tabla 4. Determinación de pH y acidez total de crema chantilly con el extracto de *Opuntia ficus-indica* “tuna morada”.

parámetro	crema chantilly
pH en una semana	3,98
Acidez total en una semana	0,50

Tabla 5. Parámetros de color, olor, sabor mediante escala ordinal de aceptación sensorial de la crema chantilly pigmentado con el extracto de *Opuntia ficus-indica* “tuna morada”.

Puntaje	Nivel de agrado	Cantidad	Porcentaje (%)
5	Me gusta mucho	20	66,67
4	Me gusta moderadamente	8	26,67
3	No me gusta ni me disgusta	2	6,66
2	Me disgusta moderadamente	0	0
1	Me disgusta mucho	0	0
Total		30	100

En la tabla 5 se evaluó el nivel de agrado del extracto del fruto de “tuna morada” que se pigmentó en crema chantilly, la cuál se usó en la decoración de un postre; de un total de 30 personas que asistieron al programa de vaso de leche, 20 personas dieron un puntaje máximo de 5 (nivel de agrado me gusta mucho) obteniéndose un 66,67 % de aceptación.

V. DISCUSIÓN

La mayoría de los pigmentos naturales de origen vegetal presentan estructuras moleculares de naturaleza antioxidante, inhibiendo o neutralizando los efectos de los radicales libres que son muy nocivos para las biomoléculas de las células. Así mismo, los alimentos tienden a oxidarse por efecto de factores como la luz y el oxígeno ambiental, afectando sus valores nutricionales.

Las betalaínas presentan actividad antioxidante y también como preventivo anticancerígeno. Si bien la **Beta vulgaris** L. “beterraga” ha sido incluida entre los 10 vegetales con mayor poder antioxidante, hay también evidencia creciente de una poderosa actividad del fruto de **Opuntia ficus-indica** “tuna morada”.

La capacidad de captación de radical DPPH por el extracto de **Opuntia ficus-indica** frente a la vitamina C, resulta ser significativa con 63,56 %, comparado vitamina C que es de 69,77 %. Estas evidencias *in vitro* se deberían a las betalaínas de la “tuna morada”, cuyos componentes son betaxantina y betacianina, éste último es el principal componente.

Los estudios de Stintzing *et al.* (2005)^[51], revelaron que las betalaínas de la **Opuntia ficus-indica** poseen actividad antioxidante *in vitro* comparado con el ácido ascórbico.

En cuanto a las betalaínas aisladas, se ha descripto su actividad como captadores de radicales libres, por ejemplo, la actividad de la betanina – la betacianina de la remolacha- y la indicaxantina para captar el ácido hipocloroso (HClO) el antioxidante más potente producido por neutrófilos humanos^[52].

También se comprobó que los eritrocitos humanos incorporan betalaínas dietarios a partir de los alimentos, como la “tuna morada”, sugiriendo que podrían protegerlas, evitando su hemólisis oxidativa^[53].

La actividad antioxidante la de betanina y de su aglicón la betanidina se manifestó también mediante la inhibición *in vitro* de la peroxidación lipídica con concentraciones muy bajas. Podríamos correlacionar que la betacianina

de la ***Opuntia ficus-indica*** “tuna morada”, procedente de la ciudad de Ayacucho posee actividad antioxidante y ésta se debería a sus estructuras y sus concentraciones de este metabolito^[53].

Los alimentos requieren ser conservados dentro del tiempo de vida útil, para ello deben mantener sus parámetros de calidad nutricional, además de los parámetros físico-químicos (color, sabor, olor, textura, etc.).

Otros autores han demostrado que a pesar de ser hidrófilo, tanto la betanina como la indicaxantina se pueden asociar a la LDL (lipoproteína de baja densidad) humana *in vitro* e *in vivo* aumentando su resistencia a la oxidación de los radicales libres, sinergizando la actividad del HDL (lipoproteína de alta densidad)^[54, 55].

Se ha demostrado la actividad inhibidora de la remolacha y, más delante de la betanina en particular, en tumores de piel y pulmón en ratones^[56, 57].

La betacianina de la ***Opuntia ficus-indica*** “tuna morada”, posiblemente tiene efecto preventivo para evitar los cánceres de ovario y de vejiga. Así lo comprobaron Zou *et al.* (2005)^[58].

A través de los diversos estudios han demostrado la importancia que tienen las betalainas, específicamente la betacianina y betaxantina de la “tuna morada”, mostrando su poder antioxidante.

Al igual que otros pigmentos naturales, las betalainas se ven afectadas por diversos factores como la luz, pH, oxígeno, temperatura, metales, actividad de agua, ácidos orgánicos, cationes, antioxidantes y secuestrantes. Las betalainas son muy termolábiles y su velocidad de degradación se incrementa con la temperatura, siendo las betaxantinas mucho más sensibles que las betacianinas^[58].

Según estudios previos de **Zou D y Col, *O. ficus-indica***, en mayor cantidad posee la betacianina, una molécula que se asemeja a la antocianina del “maíz morado” (***Zea mays***) que son más estables ante la luz, pH, temperatura y otros factores físico-químicos^[58].

Rodriguez (1985) y Saguy (1979), han observado que el efecto de la temperatura sigue una cinética de primer orden, lo cual permite expresar la

estabilidad de los pigmentos de las betalaínas en términos de su vida media o vida útil^[59,60].

El extracto de ***Opuntia ficus-indica*** (figuras 14 y 15) presenta una curva espectral con un λ óptimo de 537, estando dentro de los valores establecidos, analizado con espectrofotómetro UV-visible; lo mismo se evidencia a los 7 días de conservado en refrigeración a 4° C.

Las betalainas son estables en el intervalo de pH 3-7 y por lo tanto su uso como colorantes es factible ya que la mayoría de alimentos cae dentro de ese intervalo. Se tienen reportes de valores de betanina está en el rango de pH de 4,0 a 5,0 y en otros estudios de 4,8 a 5,2. Dichos parámetros de ***O. ficus indica*** se encuentran dentro de estos rangos; como se observa en la tabla 1, con un pH = 5,20; acidez total = 0,11; y sólidos solubles = 1,20 °Brix.

Dentro de una semana varía estos valores, pero no de manera extrema, moderadamente, tales así que el pH = 3,98 y acidez total = 0,50.

En los parámetros de color, olor, sabor mediante escala ordinal de aceptación sensorial de la crema chantilly con extracto del fruto de ***Opuntia ficus-indica*** “tuna morada”, el 66,67% lo afirman como “me gusta mucho”, en “me gusta moderadamente” el valor es de 26,67% y un 6,66% de “no me gusta ni me disgusta”. Siendo muy aceptable por los consumidores.

VI. CONCLUSIONES

1. Se obtuvo el extracto hidroalcohólico de la pulpa del fruto de ***Opuntia ficus-indica*** “tuna morada”.
2. Usando el radical DPPH, el extracto de la pulpa del fruto de ***Opuntia ficus-indica*** “tuna morada” presentó una actividad antioxidante de 63,56%, siendo ésta menor comparada con la vitamina C (69,77%).
3. Según el método de peroxidación lipídica en microsoma hepático la actividad antioxidante del extracto de la pulpa del fruto de ***Opuntia ficus-indica***, fue de 0,117 $\mu\text{mol/mL}$, frente a lo obtenido para la vitamina C que fue de 0,103 $\mu\text{mol/mL}$.
4. La aplicación del extracto de la pulpa del fruto de ***Opuntia ficus-indica*** “tuna morada” en crema chantilly fue estable hasta 7 días.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. **Mostacero LJ, Mejía CF, Gamarra TO.** Taxonomía de las fanerógamas útiles del Perú. Trujillo Edit. CONCYTEC; 2002.
2. **Palacios RP, Scheinvar L, Téllez O.** Nicho ecológico y distribución geográfica del género *Opuntia* en la región central de México. Laboratorio de Recursos Naturale. México DF: Universidad Nacional Autónoma de México; 2005.
3. **Consorcio Wafra.** Gestión Integrada de Recursos Hídricos y Agroforestería en zonas Áridas, Semiáridas y Sub Húmedas Secas de America Latina; 2008.
4. **García GV.** Evolución de compuestos funcionales durante la maduración de frutos de *Opuntia stricta*.. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Cartagena de Indias: Universidad Politécnica de Cartagena; 2008.
5. **Franco ZM.** Caracterización parcial del pigmento rojo del fruto de jiotilla (*Escontria chiotilla*) una cactácea subexplotada. Tesis de maestría en biotecnología. México DF: Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa; 2004.
6. **Venereo GJ.** Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Rev. Cubana Médico Militar, 2002;31(2):126-33.
7. **Amie D, Davidovic-Amié D, Beslo D, Trinajstić N.** Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. Croatica chemical acta CCACAA, 2003;76 (1):55-6.
8. **Repo CR, Encina ZC.** Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. Rev. Soc. Quím. Perú, 2008; 74 (2).
9. **Araya LH, Clavijo RC, Herrera C.** Capacidad antioxidante de frutas y verduras cultivadas en Chile. Rev. Archivos latinoamericanos de nutrición, 2006; 56 (4).
10. **Halliwell B, Gutteridge JMC.** Free radical in biology and medicine. *JPS*, 1986; 75 (1):105-6.
11. **Halliwell B.** Reactive oxygen species in living systems: Sources, biochemistry and role in human disease. *Am J Med*, 1991;(91):S14- S22.
12. **Freeman BA, Crapo JD.** Free radicals and tissue injury. *Lab Invest*, 1982;(47):412-15.

13. **Basaga HS.** Biochemical aspects of free radicals. *Biochem Cell Biol*, 1989; vol (68): pág 989-98.
14. **Turrens J.** Fuentes intracelulares de especies oxidantes en condiciones normales y patológicas. Antioxidante y calidad de vida. *Rev Cubana Invest Biomed*, 1994;(1):16-9.
15. **Cadenas E, Packer L.** Handbook of antioxidants. New York: Marcel Dekker, Inc; 2002.
16. **Rodríguez PJM, Mendez LJR, Trujillo LY.** Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Rev. Cubana Med Milit*, 2001; 30(1):15-20.
17. **Miranda ZML.** Influencia de los procesos de germinación y fermentación en la capacidad antioxidante y contenido en vitamina C y E de *Lupinus albus* var. Multolupa. Lima, tesis UNMSM; Lima: 2003.
18. **Oteiza PA.** Modificación activa de las proteínas. Antioxidante y Calidad de Vida. *Rev. Cubana Med Milit*, 1995; 2:12-20.
19. **Cranfor DR, Davies KJA.** Adaptative response and oxidative stress. *Envién. Health Perspect.*, 1994;102:25-8.
20. **Salonen JJ.** Risk of cancer in relation to serum concentrations of selenium and Vit. A and E. Matched case control analysis of prospectivedata. *Br Med J*, 1985;290:417-20.
21. **Black G.** Fruit vegetables and cancer prevention: a review of epidemiological evidence. *Nutr Cancer*, 1992;18:1-29.
22. **Burr ML.** Antioxidants and cancer. *J Human Nutr Dietetics*, 1994;7:409-16.
23. **Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jurgens G.** The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radial Biol Med*, 1992;13:341-90.
24. **Packer L.** Vitamin E is nature's master antioxidant. *Sci Am Sci Med*, 1994;1:54-63.
25. **Kushi LH, Folsom AR, Prineas RJ, Mink PJ, Wu Y, Bostick R.** Dietary antioxidant vitamins and death from coronary heart disease in postmenopausal women. *N Engl J Med*, 1996;334:1156-62.
26. **Hodis HN, Mack WJ, Labreel C, Hemphill L, Sevanian A, Johnson R, et al.** Serial coronary angiographic evidence that antioxidant vitamin intake reduces progression of coronary artery atherosclerosis. *JAMA*, 1995;273:1849-54.

27. **Stephens NG, Parsons A, Schofield PM, Kelly F, Cheesman K, Mitchison MJ, et al.** Randomised controlled trial of Vit. E in patients with coronary disease: Cambridge Heart Antioxidant Study (CHAOS). *Lancet* 1996;347:781-6.
28. **Seddon JM, Ajani VA, Sperduto RD.** Dietary carotenoids, Vit. A, C, and E and advance age-related macular degeneration. *JAMA*, 1994;272:1413-20.
29. **Aejmelaus RT, Holm P, Kauskinen U.** Age related changes in the peroxy radical scavenging capacity of human plasma. *Free Rad Biol Med*, 1997;23:69-75.
30. **Wei YH, Kad SH, Lee HC.** Simultaneous increase of mitochondrial DNA deletion and lipid peroxidation in human aging. *Ann NY Acad Sci*, 1996;786:23-34.
31. **Luscesoli F, Fraga CG.** Evaluación del estrés oxidativo. Antioxidante y calidad de vida, 1995;1:8-13.
32. **Treviño NJ, Oranday CA, Rivas MC, Verde SM, Núñez GA y Morales RE.** Potencial Antioxidante en Cactácea. Mexico: tesis UNAL; 2005.
33. **Joyeux M, Lobtein A, Antón R, Mortier F.** Comparative antilipoperoxidant, antinecrotic and scavenging properties of terpenes and biflavones from Gingo and some flavonoids. *Planta Med*, 1995; 61: 126-9.
34. **Buege JA, Aust SD.** Microsomal lipid peroxidation. *Methods in enzymology*, 1984; 52:302-10.
35. **Bonacin JA, Engelmann FM, Severino D, Toma HA, Baptista MS.** Singlet oxygen quantum yields (Φ_d) in water using beetroot extract and an array of LEDs. *J. Braz. Chem. Soc*, 2009; vol.2(1): 4-8.
36. **Marañón-Ruiz VF, Rizo de la Torre LC, Chiu-Zarate R.** Caracterización de las propiedades ópticas de betacianinas y betaxantinas por espectroscopia Uv-Vis y barrido en Z. *Superficies y Vacío. Red e revistas científicas de América latina y el Caribe, España y Portugal*, 2011; 24(4):113-0.
37. **Bello JM.** Productos lácteos: la ruta de la metamorfosis. *Revista digital universitaria*, 2004; 5(7): 3-14.
38. **Osborne D, Voogt P.** Análisis de los Nutrientes de los Alimentos. 3ra edición, Acribia; Zaragoza: 2009.

- 39. Buege JA, Aust SD.** Microsomal lipid peroxidation. *Methods in enzymology*. 1984; 52: 302-10.
- 40. Nieman Timothy A, James F, Douglas A.** Principios de análisis instrumental. Madrid: Edtit. MCGRAW-HILL; 2009.
- 41. Moreno AM, Camacho DB, Vilorio MA.** Degradación de betalaínas en remolacha (*Beta vulgaris* L.) estudio cinético. *Científica* 2002; 2(12):1-8.
- 42. Moreno M, Betancourt M, Pitre A, García D, Belén D, Medina C.** Evaluación de la estabilidad de bebidas cítricas acondicionadas con dos fuentes naturales de betalaínas: tuna y remolacha. *Bioagro*, 2007; 19(3):149-59.
- 43. Cantillo B, Fernández T, Nuñez M.** Durabilidad de los alimentos. Métodos de estimación. La Habana: Instituto de Investigación para la Industria Alimentaria; 1994.
- 44. Horwitz W, Latimer G.** Official methods of analysis of AOAC International. 18th edition. USA; 2005.
- 45. Duytsche Y.** Diversiones dulces. Cádiz: Edit. Montagut Editores; 2007.
- 46. INUAL SAC.** Polvo para preparar crema chantilly artificial. Córdova: Edit. INDUAL; 2012.
- 47. Chispi tartas.** Crema chantilly o whipped cream. Lima: Edit. Chispi tartas; 2012.
- 48. Hernández EA.** Evaluación sensorial. Bogotá: UNAD; 2005.
- 49. Rodríguez SC, Questa AG.** Evaluación sensorial de vegetales frescos y mínimamente procesados. Santiago del Estero: Universidad Nacional de Santiago del Estero; 2007.
- 50. Wayne D.** Bioestadística. Bases para el análisis de las ciencias de la salud. México: 4ta. Edición. Edit. Limusa Wiley; 2002.
- 51. Stintzing FC, Herbach KM, Mosshammer MR.** Color, betalain pattern, and antioxidant properties of cactus pear (*Opuntia* spp.) clones. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005; 53: 442–51.

52. **Allegra M, Furtmüller PG, Jantschko W.** Mechanism of interaction of betanin and indicaxanthin with human myeloperoxidase and hypochlorous acid. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2005; 332: 837–44.
53. **Tesoriere L, Butera L, Allegra M, Fazzari M, Livrea MA.** Distribution of betalain pigments in red blood cells after consumption of cactus pear fruits and increased resistance of the cells to ex vivo induced oxidative hemolysis in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005; 53: 1266–70.
54. **Tesoriere I, Butera D, D'Arpa D.** Increased resistance to oxidation of betalain-enriched human low density lipoproteins. *Free Radical Research*, 2003; 37: 689–96.
55. **Tesoriere L, Allegra M, Butera D, Livrea MA.** Absorption, excretion, and distribution of dietary antioxidant betalains in LDLs: Potential health effects of betalains in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2004; 80: 941–45.
56. **Kapadia GJ, Tokuda H, Konoshima T, Nishino H.** Chemoprevention of lung and skin cancer by Beta vulgaris (beet) root extract. *Cancer Letters*, 1996; 100: 211–14.
57. **Kapadia GJ, Azuine MA, Sridhar R.** Chemoprevention of DMBA-induced UV-B promoted, NOR-1-induced TPA promoted skin carcinogenesis, and DEN-induced Phenobarbital promoted liver tumors in mice by extract of beetroot. *Pharmacological Research*, 2003; 47: 141–48.
58. **Zou D, Brewer M, Garcia F.** Cactus pear: a natural product in cancer chemoprevention. *Nutrition Journal*, 2005; 4: 25.
59. **Rodríguez PF.** Las betalainas como colorantes naturales en alimentos. *Revista de la Industria Alimentaria*, 1985; 7(4): 9-13.
60. **Saguy I.** Thermostability of red beet pigments (betanin and vulgaxanthin I): Influence of pH and temperature. *Journal of Food Science*, 2005; 44: 1554- 55.

ANEXO



Figura 17. Fruto de *Opuntia ficus-indica* “tuna morada”.



Figura 18. Pulpa del fruto de *Opuntia ficus-indica* “tuna morada”.



Figura 19. Extracto del fruto de *Opuntia ficus-indica* “tuna morada”.

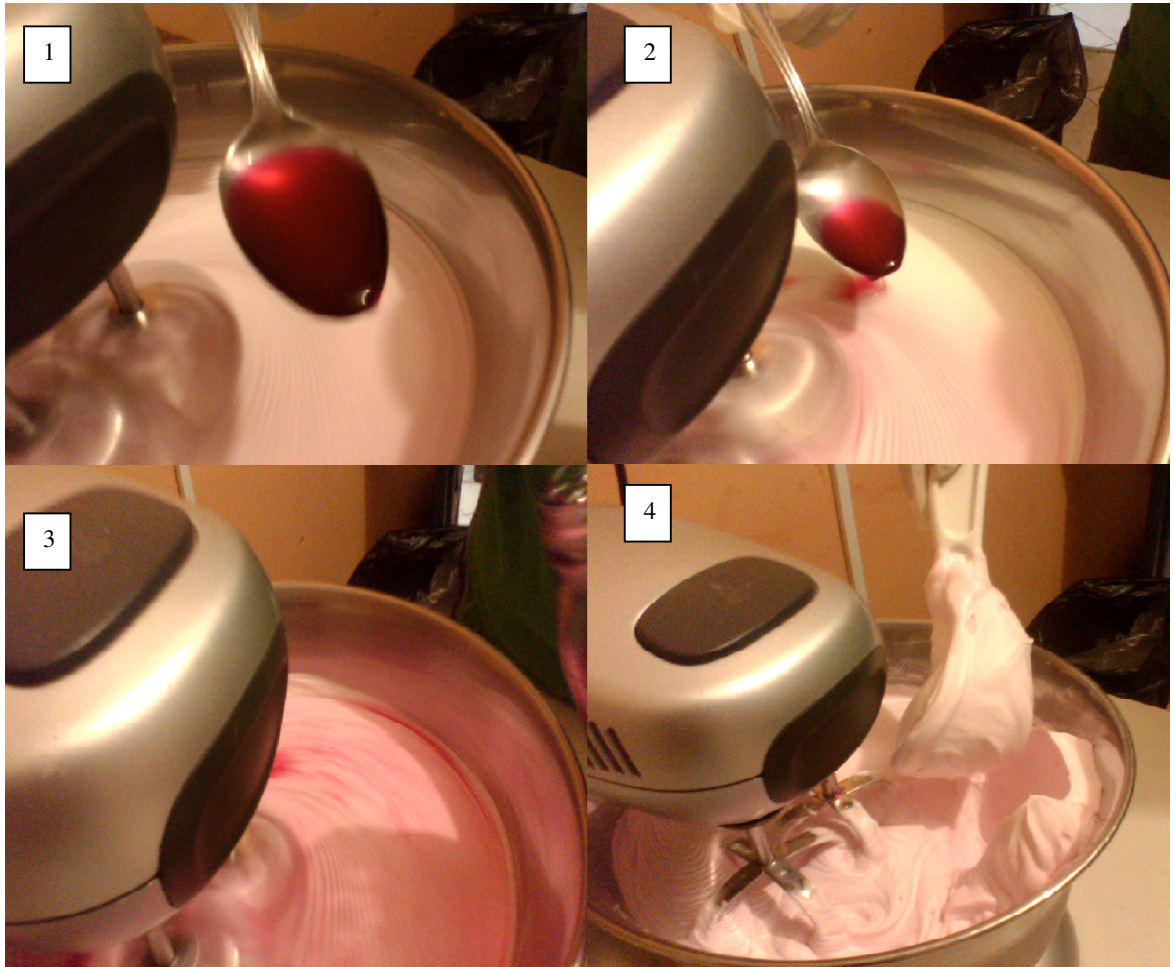


Figura 20. Aplicación del extracto del fruto de *Opuntia ficus-indica* “tuna morada” en crema chantilly



Figura 21. Preparacion y decoración de una torta con crema chantilly que esta pigmentado con el extracto del fruto de *Opuntia ficus-indica* "tuna morada".

Evaluación sensorial de una torta con crema chantilly que esta pigmentado con el extracto del fruto de ***Opuntia ficus-indica*** “tuna morada”.

NOMBRE:

FECHA:

EDAD:

Pruebe el producto que se presenta a continuación. Por favor marque con una X, el cuadrado que esta junto a la frase que mejor describa su opinión sobre el producto que acaba de probar

Puntaje	Nivel de agrado color, olor, sabor	Marca con una X
5	Me gusta mucho	
4	Me gusta moderadamente	
3	No me gusta ni me disgusta	
2	Me disgusta moderadamente	
1	Me disgusta mucho	

COMENTARIOS:

.....

MUCHAS GRACIAS!!!